

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 70 (1979)

Heft: 2

Artikel: Nachweis der Färbung von Orangensaft mit Randfarbstoffen und mit Carminsäure

Autor: Andrey, D. / Schüpbach, M.R.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983720>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 14.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Nachweis der Färbung von Orangensaft mit Randenfarbstoffen und mit Carminsäure

D. Andrey

Kantonales Laboratorium Basel-Stadt
(Leitung: Dr. *M. R. Schüpbach*, Kantonschemiker)

Einleitung

Die Farbe eines Lebensmittels stellt eines der wichtigsten Kriterien in dessen Beurteilung durch den Konsumenten dar. Es wird daher nicht selten versucht, durch Zugabe von Farbstoffen die Attraktivität von Produkten zu steigern. Blutorangensaft wird sowohl seiner roten Farbe als auch seines kräftigeren Aromas wegen oft dem blonden Orangensaft vorgezogen. Einige Produzenten sind daher bestrebt, blonde Orangensäfte rot zu färben oder die oft schwache rote Farbe von Blutorangensäften durch Farbzusätze zu vertiefen. Laut eidgenössischer Lebensmittelverordnung ist die Färbung von Orangensaft mit höchstens 10⁰/₀ eines anderen Fruchtsaftes zulässig (1). Andere Zusätze sind nicht erlaubt. Da Färbungen mit Randensaft (Gemüsesaft) und mit Carminsäure (Naturfarbstoff tierischen Ursprungs) vorkommen, ist eine einfache Methode für deren Erkennung erwünscht.

Die nachfolgende Arbeitsvorschrift wurde zu diesem Zweck anhand von Versuchen mit 9 verschiedenen Orangensäften des Handels sowie mit selbst gepreßtem Blutorangensaft erarbeitet. Die praktische Erprobung der Methode erfolgte an Blond- und Blutorangensäften, die mit Randensaftkonzentrat 63° Brix (Schweizer Getränke AG, Obermeilen), Carminsäure, p. a. (Merck, Darmstadt), Holundersaftkonzentrat 71° Brix (Obstverwertungsgenossenschaft Horn), Oenocyaninpulver (Trudel AG, Zürich), Myrtillus-Anthocyanen (Senn Chemicals, Dielsdorf) und Saft von schwarzen Kirschen (Hero «Sip») so gefärbt wurden, daß ihre Farbe etwa der von selbst gepreßtem Blutorangensaft entsprach. Zur Ermittlung der Empfindlichkeit wurden Blond- und Blutorangensäfte, nach Färbung mit 0,6⁰/₀, 0,3⁰/₀, 0,13⁰/₀, 0,05⁰/₀, 0,025⁰/₀ Randenkonzentrat und mit 80 ppm, 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 4 ppm, 2 ppm, 1 ppm Carminsäure, verwendet. Die Methode wurde auch an Blutorangensaft, nach Färbung mit gleichzeitig 0,15⁰/₀ Randenkonzentrat, 40 ppm Carminsäure und 0,4⁰/₀ Holunderkonzentrat, getestet. Dabei konnten sowohl die Farbstoffe der Rande als auch die Carminsäure nachgewiesen werden.

Die Farbstoffe der Rande (E 162)

Die Rande (Rote Rübe, Rote Beete, *Beta vulgaris* var. *rubra* L.) enthält Farbstoffe aus der Gruppe der Betalaine, die sich von den rot-blauen Anthocyanen durch eine völlig andere Struktur unterscheiden. Betalaine können als Kondensationsprodukte von α -Aminosäuren mit der Betalaminsäure (siehe Abb. 1) aufgefaßt werden (2). Man unterscheidet zwischen roten (Betacyanine) und gelben Betalainen (Betaxanthine). Es handelt sich um wasserlösliche Zwitterionen mit isoelektrischen Punkten bei etwa pH 2 (2). Die wichtigsten Farbstoffe der Rande sind die Betacyanine Betanin und Betanidin sowie die Betaxanthine Vulgaxanthin I und II (3). Abbildung 1 gibt Auskunft über die Strukturen dieser Betalaine. Im Handel sind flüssige und pulverförmige Konzentrate aus Randensaft erhältlich. Diese werden zum Färben von Joghurts, Kaugummi, Fruchtgelees, Fleisch (Ersatz von Nitrit), Würsten, Teigwaren, Speiseeis, Waffelfüllungen, Schmelzkäse, Suppen, Saucen usw. verwendet (4).

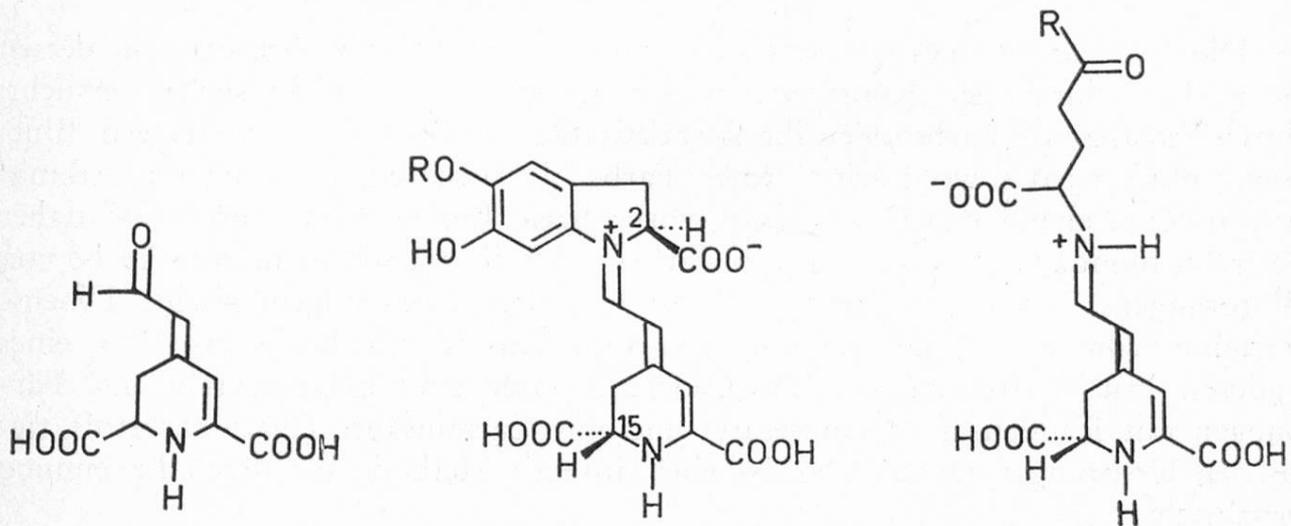


Fig. 1

a) Betalaminsäure

b) R = H: Betanidin
 R = 5-O- β -Glucopyranosyl:
 Betanin
 C — 15 Epimeres:
 Isobetanin

c) R = NH₂:
 Vulgaxanthin I
 R = OH:
 Vulgaxanthin II

Die Carminsäure (E 120)

Die Carminsäure ist ein Anthrachinon-C-Glukosid, das durch wässrige Extraktion aus getrockneten weiblichen Nopal-Schildläusen (*Cochenille*, *Coccus cacti*) gewonnen wird (5). Die Nopal-Schildläuse werden in Mexiko, Peru, Honduras, Java usw. auf Opuntien gezüchtet. Im Handel ist der Farbstoff als Pulver erhältlich. Er dient vor allem zum Färben von Fleisch, Konditoreiwaren, Biscuitcremen, Suppenfertiggerichten, Fruchtsäften, Konfitüren und alkoholischen Getränken (4). Abbildung 2 zeigt die Struktur der Carminsäure (6).

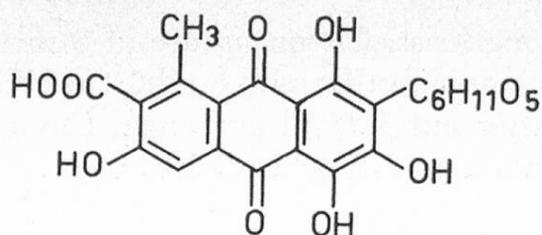


Fig. 2. Carminsäure (nach Bhatia & Venkataraman (5))

Nachweismethode

Die Farbstoffe werden in stark saurem Milieu (pH 1) an den Kationenaustauscher Dowex 50W X4 (H⁺-Form) adsorbiert und mit dest. Wasser eluiert. Das Eluat dient nach Zusatz von etwas Acetatpuffer (pH 4,6) direkt zur Aufnahme eines Absorptionsspektrums. Für die Dünnschichtchromatographie (DC) wird ein Teil des Eluats durch Lyophilisation aufkonzentriert. Die Randfarbstoffe sind im Eluat in genügend hoher Konzentration vorhanden, um Betacyanine und Vulgaxanthine sowohl auf dem Dünnschichtchromatogramm als auch im Spektrum deutlich erkennen zu lassen. Die Carminsäure wird nur in beschränktem Maße eluiert. Die erhaltene Menge genügt jedoch für den Nachweis mittels DC und Spektrophotometrie. Die Anthocyane aus Blutorangen wie auch diejenigen aus Weintrauben und Heidelbeeren geben auf der DC-Platte schwache Flecken mit kleiner Laufstrecke. Im Spektrum erscheinen sie nicht. Um die erhaltenen Resultate weiter zu sichern, wird das charakteristische Verhalten der Flecken auf der DC-Platte gegenüber NH₃-Dämpfen beobachtet.

Material

Zentrifuge (ca. 2400 g)

Spektrophotometer

Tiefkühlschrank

Hochvakuumpumpe (p < 0,5 Torr)

Vakuum-Exsikkator mit Silicagel

Glasfilterfritte G 3 oder G 4 (ϕ = 3 cm)

DC-Fertigplatten Cellulose ohne Fluoreszenzindikator, 10x10 cm, Schichtdicke 0,1 mm, Merck

Ionenaustauscher Dowex 50W X4, H⁺-Form, 200—400 mesh, 65—72% Feuchtigkeitsgehalt.

Lösungen:

2 n HCl

0,1 n HCl

Acetatpuffer pH 4,6: 1,36 Natriumacetat und 0,77 g Ammoniumacetat in 50 ml dest. Wasser lösen, 1 ml 98% Essigsäure zugeben und mit dest. Wasser auf 100 ml auffüllen.

Laufmittel (DC): 84 mg krist. Citronensäure in 8 ml 0,1 n NaOH lösen, 1 g Ammoniumsulfat und 6 ml 0,1 n HCl zugeben und mit dest. Wasser auf 100 ml auffüllen. Das Laufmittel ist ungekühlt mindestens 2 Wochen haltbar.

Arbeitsvorschrift

1. 50 ml Orangensaft während 15 min bei 2400 g zentrifugieren.
2. 30 ml Zentrifugat abdekantieren und mit 2 n HCl auf etwa pH 1 einstellen. (Dazu zuerst 1 ml 2 n HCl, dann Portionen zu 0,1 ml zugeben, bis Universalindikatorpapier pH 1 anzeigt.)
3. Auf einer Glasfilterfritte G 3 oder G 4 ($\phi = 3$ cm) 0,5 g Ionenaustauscher Dowex 50W X4 (H^+ -Form, 200—400 mesh, 65—72% Feuchtigkeitsgehalt) vorlegen.
4. 5mal je ca. 6 ml angesäuertes Zentrifugat auf die Fritte geben, den Ionenaustauscher kurz aufrühren und das Zentrifugat in eine Saugflasche absaugen.
5. Waschen des Ionenaustauschers durch Aufrühren und Absaugen mit nacheinander 4x5 ml 0,1 n HCl, 1x2 ml dest. Wasser und 1x1 ml dest. Wasser (dabei werden praktisch noch keine Farbstoffe eluiert).
6. Die Saugflasche entleeren und darin ein Reagenzglas unter der Glasfilterfritte so vorlegen, daß das Filtrat beim Absaugen ins Reagenzglas fließt. Falls vorhanden, wird anstelle der Saugflasche ein Witt'scher Topf oder eine Saugglocke verwendet.
7. Elution der Farbstoffe durch Aufrühren und Absaugen mit 2x2 ml dest. Wasser.
8. 1 ml frisches Eluat* in ein 3- bis 5-ml-Wägegläschen pipettieren. Das Gläschen wird während ca. 30 min in den Tiefkühlschrank gestellt ($T < -18^\circ C$) und dann sofort in einem Exsikkator über Silicagel unter Hochvakuum gebracht ($p = 0,5$ Torr). Das Eluat darf dabei nicht auftauen. Nach einigen Stunden ist das Wasser aus dem Eluat heraussublimiert. Das zurückbleibende Lyophilisat wird für die DC verwendet. (Die Lyophilisation kann dadurch beschleunigt werden, daß das Wägegläschen auf ein Papier gestellt wird, das direkt auf dem Silicagel liegt. So kann die bei der Hydratation des Silicagels freier werdende Wärme die Sublimation von Wasser aus dem Innern des Wägegläschens fördern.)
9. Die restlichen 3 ml des Eluats werden für die Spektrophotometrie verwendet.

Dünnschichtchromatographie

Das unter 8. erhaltene Lyophilisat wird in 5 μ l dest. Wasser aufgenommen. 1 μ l dieser Lösung wird auf eine Celluloseplatte aufgetragen. Auf derselben Platte werden als Referenzen je 1 μ l folgender Lösungen aufgetragen:

* Falls das Eluat nicht sofort weiterverwendet werden kann, läßt es sich kühl und vor Licht geschützt einige Stunden lang aufbewahren.

Tabelle 1. Charakterisierung der Randenfarbstoffe, der Carminsäure und der Blutorangenanthocyane mit Dünnschichtchromatographie und Spektrophotometrie

Farbstoff	DC				Spektrum 400—650 nm
	hRf	Farbe	Fluoreszenz im UV sowohl bei 254 nm als auch bei 366 nm	Farbreaktion mit NH ₃ -Dämpfen	
Betanin	70	rotviolett	—	Verfärbung nach violett, Abnahme der Farbintensität	Maximum bei 537 nm
Isobetanin	57	schwach rotviolett	—	Verfärbung nach violett, Abnahme der Farbintensität	—
Betanidin	33	schwach blauviolett	—	wird etwas dunkler	—
Vulgaxanthine I & II	86	gelb	gelb	keine Reaktion	Schulter bei 480 nm
Carminsäure	19	orange	orange	wird violett	wegen kleiner Konzentration kleine Extinktionen Maximum bei 492 nm Schultern bei 470 nm und 530 nm
Blutorangenanthocyane	4	schwach weinrot	—	wird grün	erscheint nicht im Spektrum

Spektrophotometrie

Die in der Arbeitsvorschrift unter 9. genannten 3 ml Eluat werden mit 0,15 ml Acetatpuffer pH 4,6 (Herstellung siehe bei Material) versetzt, gerührt und in eine 1-cm-Küvette aus optischem Glas gegeben. Es wird ein Absorptionsspektrum von 400—650 nm aufgenommen. Abbildung 4 zeigt charakteristische Spektren der Carminsäure und der Randenfarbstoffe, wie sie unter diesen Bedingungen erhalten wurden. Die Eluate von ungefärbten Blond- und Blutorangensäften zeigen keine Absorption.

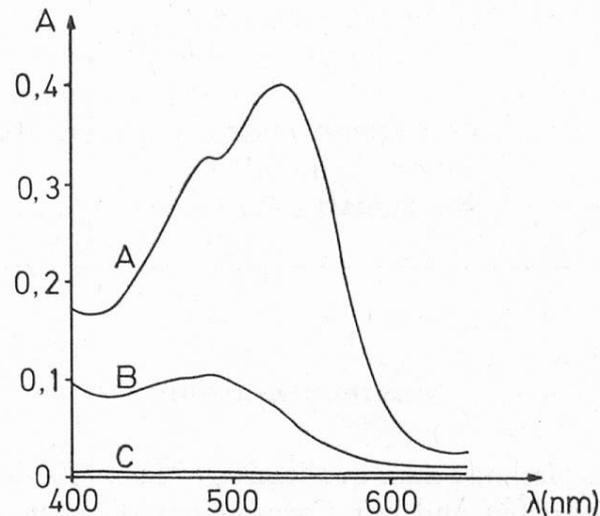


Fig. 4. Absorptionsspektren der Eluate (Küvette 1 cm, OG)

- A Orangensaft mit 3% Randensaft
- B Orangensaft mit 40 mg/l Carminsäure
- C Orangensaft ungefärbt

Resultate

Dünnschichtchromatographie und Spektrophotometrie erlauben den eindeutigen Nachweis der Färbung von Orangensaft mit Randenfarbstoffen und mit Carminsäure. Randenfarbstoffe, Carminsäure und Blutorangenanthocyane unterscheiden sich klar voneinander. Hingegen können die Blutorangenanthocyane nicht von den Anthocyanen aus Weintrauben (Oenocyanine) und Heidelbeeren (Myrtillus) unterschieden werden, da alle drei ins Eluat gelangen und sich auf der DC-Platte wie auch in der Farbreaktion mit NH_3 -Dämpfen sehr ähnlich verhalten. Tabelle 1 gibt Auskunft über einige dünn-schichtchromatographische und spektrophotometrische Daten (siehe auch Abb. 3 und 4).

Nachweisgrenzen

Die beschriebene Methode ermöglicht den Nachweis der Randenfarbstoffe und der Carminsäure bereits in Konzentrationen, die eine sehr schwache Färbung des

Orangensaftes bewirken. In Tabelle 2 sind die Nachweisgrenzen der Farbstoffe in Dünnschichtchromatographie und Spektrophotometrie angegeben.

Tabelle 2. Nachweisgrenzen der Randenfarbstoffe und der Carminsäure in Orangensaft

	Randenfarbstoffe	Carminsäure
Dünnschichtchromatographie	ca. 2 ppm Betanin entsprechend 0,13% Randensaft	ca. 2 ppm
Spektrophotometrie	ca. 3 ppm Betanin entsprechend 0,2% Randensaft	ca. 40 ppm

Zusammenfassung

Es wird eine einfache Methode zum qualitativen Nachweis der Färbung von Orangensaft mit Rote-Beete-Farbstoffen und mit Carminsäure (Cochinille) beschrieben. Die Naturfarbstoffe werden durch Adsorption und Elution an einem Kationenaustauscher angereichert und mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie und Spektrophotometrie identifiziert. Damit können die genannten Farbstoffe eindeutig von den natürlicherweise in Blutorangen enthaltenen Anthocyanen unterschieden werden. Zusätze von Holunder-, Weintrauben-, Kirschen- und Heidelbeerenanthocyanen stören den Nachweis nicht.

Résumé

Une méthode simple permettant de déceler une coloration de jus d'oranges avec les colorants de la betterave rouge et avec l'acide carminique (cochenille) est décrite. Ces colorants sont enrichis par adsorption suivie d'une élution sur un échangeur de cations puis sont identifiés par chromatographie sur couche mince et par spectrophotométrie. On peut ainsi clairement distinguer ces colorants des anthocyanines qui se trouvent naturellement dans les oranges sanguines. Les additions d'anthocyanines du sureau, du raisin, des cerises et des myrtilles n'interfèrent pas.

Summary

A simple method for the qualitative detection of the colouring matter from red beet or carminic acid (cochineal) in orange juice is described. These natural dyes can be enriched by adsorption on, and elution from, a cation-exchanger and identified by thin layer chromatography and spectrophotometry. With this method, these dyes can be

clearly distinguished from the naturally occurring anthocyanins found in blood oranges. Additions of anthocyanins from elderberries, grapes, cherries and bilberries do not interfere.

Literatur

1. Eidg. Lebensmittelverordnung vom 26. Mai 1936, Art. 249 Abs. 3, Stand von 1979. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern.
2. Nilsson, T.: Studies into the pigments in beetroot. Lantbruks Hoegsk. Ann. **36**, 179—219 (1970).
3. Piattelli, M., Minale, L. and Prota, G.: Pigments of the centrospermeae III: Betaxanthins from beta vulgaris L. Phytochemistry **4**, 121—124 (1964).
4. Manz, U. und Isler, O.: Das Aussehen verändernde Stoffe. In: Kosmetika, Riechstoffe und Lebensmittelzusatzstoffe, S. 120—156. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1978.
5. Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, 4. Aufl. Bd. **11**, S. 109. Verlag Chemie, Weinheim 1976.
6. Bhatia, S. B. and Venkataraman, K.: The position of the carboxyl group in carminic acid. Indian J. Chem. **3**, 92—93 (1965).

D. Andrey
Kantonales Laboratorium Basel-Stadt
Kannenfeldstr. 2
CH-4056 Basel